Aus der Klinik E der Medizinischen Klinik und
Poliklinik der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. Horst Zimmermann

UNTERSUCHUNG ZUR PHARMAKOKINETIK SUBCUTAN INJIZIERTEN ALT-INSULINS

Effekt der Mischung von kurzwirkendem mit langwirkendem Insulin auf die Absorption kurzwirkenden Insulins in die Circulation

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Heinz Spitza
und
Guido Vogel

1981

Aus der Klinik E der Medizinischen Klinik und
Poliklinik der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. Horst Zimmermann

UNTERSUCHUNG ZUR PHARMAKOKINETIK SUBCUTAN INJIZIERTEN ALT-INSULINS

Effekt der Mischung von kurzwirkendem mit langwirkendem Insulin auf die Absorption kurzwirkenden Insulins in die Circulation

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Heinz Spitza
und
Guido Vogel

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Unseren Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

gez.:
Prof. Dr. M. Straßburg

Referent
gez.:
Prof. Dr. M. Berger

Korreferent
gez.:
Prof. Dr. W. Weise

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536504_0135

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	3
1.1	Zielsetzung der Arbeit	4
1.2	Insulinpräparate	5
1.2.1	Historischer Überblick	5
1.2.2	Präparation	6
1.2.2.1	Material	6
1.2.2.2	Physikalisch-chemische Eigenschaften	7
1.2.2.3	Reinheitsprüfung	9
1.2.2.4	Biologische Bestimmung der Einheiten	9
1.2.2.5	Pharmazeutische Zubereitung - Normal-(Alt-)Insuline - Verzögerungsinsuline	10
1.2.2.6	Aufbewahrung von Insulinpräparaten	15
1.3	Klinische Wirkung der Insulin-Zubereitung	15
1.3.1	Normal-(Alt-)Insuline	16
1.3.2	Intermediär-Insuline	16
1.3.3	Langzeit-Insuline	17
1.3.4	Kombinations-Insuline	18
2.	METHODEN UND EXPERIMENTE	20
2.1	Versuchsplan	20
2.2	Analytische Methoden	21
2.3	Versuchsdurchführung	22
2.3.1	Actrapid^{R}/Monotard^{R}	22
2.3.2	Leo-Alt^{R}/Leo-NPH retard^{R}	22
2.4	Statistische und pharmakokinetische Berechnungen	23

		Seite
3.	ERGEBNISSE	27
3.1	Actrapid^{R}/Monotard^{R}	27
3.2	Leo-Alt^{R}/Leo-NPH retard^{R}	39
4.	DISKUSSION	51
5.	ZUSAMMENFASSUNG	57
6.	ANHANG	58
6.1	Literaturverzeichnis	58
6.2	Danksagungen	68
6.3	Lebensläufe	69

1. EINLEITUNG

Im Laufe der letzten Jahre hat sich in der Diabetologie wohl endgültig die Auffassung durchgesetzt, daß unter allen Umständen eine kontinuierlich gute Stoffwechseleinstellung angestrebt werden muß, um diabetische (Gefäß-)Spätkomplikationen zu vermeiden bzw. hinauszuzögern (BROWNLEE und CAHILL, 1979).

Durch eine ausgewogene gegenseitige Abstimmung von Diät, körperlicher Arbeit und Insulinsubstitutionstherapie kann dieses Ziel erreicht werden. Es ist sogar grundsätzlich möglich, auch für eine längere Zeit eine Normalisierung des Glukose-Stoffwechsels zu erzielen (JOVANOVIC, 1980).

Eine derart erfolgreiche Therapie ist allerdings nur bei intensiver Schulung der Patienten, regelmäßiger Stoffwechselkontrolle und Insulindosisselbstanpassung durch den Patienten möglich (JÖRGENS, 1979). Um zu einer optimalen Diabetes-Therapie zu gelangen, sind Kenntnisse über Absorptionskinetik und Bioverfügbarkeit subkutan injizierten Insulins von Bedeutung.

Subkutan injiziertes Alt-Insulin wird mit einer Halbwertzeit von etwa 40 - 60 Minuten in die Zirkulation absorbiert, wobei ein signifikanter Anteil des exogenen Insulins an der Injektionsstelle enzymatisch degradiert wird (BERGER, 1979).

Zahlreiche Untersuchungen haben ergeben, daß der Absorptionsprozeß des Insulins vom subkutanen Depot in die Blutbahn sehr variabel ist und durch verschiedene Faktoren beeinflußt werden kann.

Da sich innerhalb der letzten Jahre die Verwendung von Alt-Insulin-Präparaten in der Behandlung des

juvenilen Diabetes mellitus wieder mehr durchgesetzt hat, kommt der Berücksichtigung der Variabilität der Insulinabsorption der kurzwirkenden Insuline eine besondere Rolle zu. So konnte z. B. festgestellt werden, daß die Absorption von Alt-Insulin von einer Injektionsstelle am Oberschenkel wesentlich langsamer abläuft als bei Insulininjektionen im Bereich des Abdomens.
Durch Erhöhung der Hauttemperatur kommt es zu einer starken Beschleunigung der Insulinabsorption, während eine Temperatursenkung zur Verzögerung führt. Ferner wird die Insulinabsorption und die hypoglykämische Wirkung durch eine Massage der Injektionsstelle extrem verstärkt.
Es ist nach neuesten Untersuchungen anscheinend möglich, über bessere Erkenntnisse des Insulinabsorptionsprozesses eine wesentliche Verbesserung der Diabetes-Therapie zu erreichen.

1.1 Zielsetzung der Arbeit

Beim insulinpflichtigen Patienten mit Diabetes mellitus kann der Insulinbedarf durch Dosisanpassung individuell variiert, die Wirkungsdauer durch Kurz- und Langzeit-Insuline bestimmt werden. Der Wirkungsablauf jeder Insulinpräparation wird durch Angaben über Wirkungseintritt, Zeitpunkt der Maximalwirkung und der Wirkungsdauer charakterisiert (SCHÖFFLING, 1971; SCHLICHTKRULL, 1975). In den letzten Jahren sind mehr und mehr Alt-Insulin-Präparate, meist in der Kombination mit langerwirkenden Insulinen in der Behandlung des juvenilen Typ Diabetes mellitus verwendet worden.

Man empfiehlt heute die freie Mischung eines Alt-Insulins mit einem Verzögerungsinsulin am Morgen als Methode der Wahl in der Insulintherapie von jungen Diabetikern (JÖRGENS, 1979). Ob aber jede freie Mischung von kurz- mit langwirkenden Insulinen möglich ist, soll in dieser Arbeit untersucht werden. Bei der zunehmenden Verwendung von Alt-Insulin-Präparaten kommt der Berücksichtigung der Variabilität in der Absorption von kurzwirkenden Insulinen eine besondere Rolle zu.
Es ist also das Ziel dieser Arbeit, den Effekt der Mischung von kurzwirkendem mit langwirkendem Insulin auf die Absorption kurzwirkenden Insulins in die Zirkulation zu untersuchen.

1.2 Insulinpräparate

1.2.1 Historischer Überblick

Nachdem bereits 1889 von V. MEHRING und MINKOWSKI die Bedeutung des Pankreas für die Entstehung des Diabetes mellitus erkannt worden war, wurden zahlreiche Versuche unternommen, das wirksame Hormon, eine Eiweißverbindung, aus den Langerhansschen Inseln einwandfrei zu isolieren. Doch gelang dies erst im Jahre 1921 BANTING und BEST im Macleodschen Laboratorium in Toronto (Kanada). Die Entdeckung und das Verfahren wurden in großzügigster Weise den Zuckerkranken in aller Welt zur Verfügung gestellt, indem unter der Leitung von MACLEOD das Insulinkomitee der Universität Toronto gegründet wurde, welches unter

gewissen Auflagen den patentamtlichen Schutz der Bezeichnung "Insulin" R an die Herstellerfirmen vergab.
Die Herstellungs- und Reinigungsverfahren wurden von Jahr zu Jahr verbessert, bis SCOTT und FISHER 1935 herausfanden, daß Insulin nur in Gegenwart von Zink-, Nickel-, Kobalt-, Kupfer- oder Kadmiumsalzen kristallisiert. Dadurch wurde es möglich, die Konstitution des Insulinmoleküls aufzuklären und das Insulin synthetisch herzustellen.

1.2.2 Präparation

1.2.2.1 Material

Die Bauchspeicheldrüsen von Schlachttieren dienen als Grundstoff zur Herstellung/Gewinnung von Insulin. Dabei wird in erster Linie auf die Bauchspeicheldrüse von Rindern, weniger auf diejenige von Schweinen, Kälbern und Schafen zurückgegriffen. Die Drüsen werden sofort nach der Schlachtung auf eine Temperatur von unter -20°C eingefroren, um eine Aktivierung der proteolytischen Fermente zu verhindern, und werden dann tiefgefroren in Kühlwagen zum insulinherstellenden Betrieb transportiert. Dort werden die tiefgefrorenen Drüsen gemahlen und mit saurem Alkohol extrahiert. Der abgetrennte Extrakt wird schwach alkalisch gemacht, die dabei ausfallenden Eiweißstoffe abgeschleudert und nach Ansäuern im Vakuum eingeengt. Nun werden noch Fettstoffe entfernt und das erhaltene Rohinsulin wird ausgesalzen und in der isoelektrischen Zone bei pH 5,2 ausgefällt. Schließlich erfolgt in Gegenwart

von Zinksalzen die Kristallisation, die je nach Herstellerfirma meist mehrfach wiederholt wird. Eine weitergehende Reinigung des Insulins erfolgt mittels der Molekularsieb- und Ionenaustauscher-Chromatographie, wodurch hochgereinigtes oder sog. Monocomponent Insulin oder single component Insulin gewonnen wird. Inzwischen sind fast alle handelsüblichen Insulinpräparate sog. MC-Insuline, die eine reduzierte Antigenität aufweisen. Die aseptische Herstellung des Insulins gelingt durch Sterilfiltration des gelösten Trockeninsulins. Zusätze von Nipaginestern oder anderen Konservierungsmitteln (siehe auch Tab. 1) sollen vor allem die Sterilität während des Gebrauchs gewährleisten. Durch Zusatz von Glukose, Fructose, Glycerin und Kochsalz wird die Isotonie erreicht.
Der Insulin-Ertrag konnte in den letzten Jahren auf ca. 150 mg Insulin pro kg Schweine-Bauchspeicheldrüse gesteigert werden. Der Ertrag aus Rinder-Bauchspeicheldrüse liegt bei ca. 100 mg pro kg.

1.2.2.2 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Insulin (Molekulargewicht: ca. 6000) ist ein Proteohormon, bestehend aus 2 Peptidketten (A-Kette = 21 Aminosäuren, B-Kette = 30 Aminosäuren), die über 2 Disulfidbrücken miteinander verknüpft sind. Die A-Kette enthält außerdem eine Disulfidbrücke zwischen zwei Cysteinresten in Position 6 und 11. Speziesunterschiede beruhen allein auf einer unterschiedlichen Aminosäuresequenz. Das Insulinmolekül wird zunächst in Form einer einzigen 81 Aminosäuren enthaltenden unverzweigten Kette in den

ß-Zellen der Langerhansschen Inseln gebildet, die biologisch wenig aktiv ist. Die Primärstruktur dieses sog. Proinsulins begünstigt die spontane Ausbildung der Disulfidbrücken. Anschließend wird das nicht benötigte "Mittelstück" enzymatisch entfernt, so daß im fertigen Insulinmolekül 2 Peptidketten vorliegen. (Abb. 1)

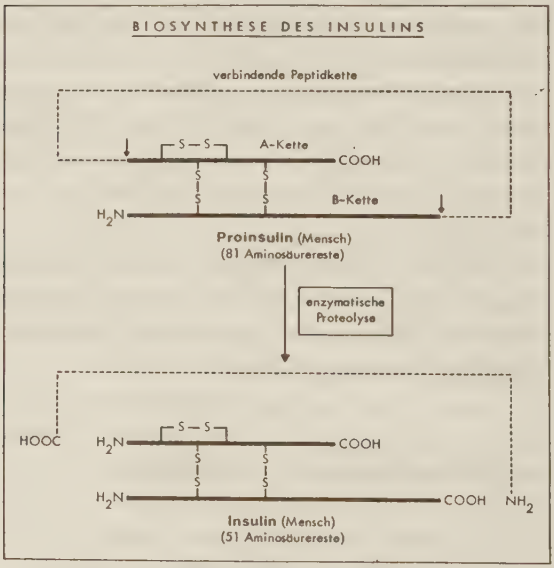


Abb. 1: Biosynthese des Insulins

1.2.2.3 Reinheitsprüfung

In den Arzneibüchern sind Vorschriften zur Bestimmung des Zinkgehaltes und der Sulfatasche enthalten, ebenso wird eine Stickstoffbestimmung verlangt. Die papierchromatographische Untersuchung gibt einen wesentlichen Aufschluß über den Reinheitsgrad eines Produktes, ebenso die spektrophotometrische und elektrophoretische Untersuchung.

1.2.2.4 Biologische Bestimmung der Einheiten

Die biologische Aktivität auch des Kristall-Insulins ist nicht konstant, sondern schwankt zwischen 24 und 27 IE/mg. Daher muß jede Fabrikationscharge biologisch getestet werden, wobei das Ergebnis der Bewertung des Insulingehaltes bei der Herstellung zugrunde gelegt wird.

Die biologische Bestimmung der Insulin-Einheiten beruht auf der Messung der Blutzuckersenkung im Tierversuch. Hierbei wird das Insulin am Kaninchen im sogenannten Kreuztest im Vergleich mit dem internationalen Standard ausgewertet.

Der 4. Internationale Standard für Insulin, herausgegeben im Jahr 1959 vom National Institute for Medical Research in London, hat einen Insulingehalt von 24 IE/mg (BANGHAM und MUSSET, 1959).

1.2.2.5 Pharmazeutische Zubereitung

- Normal-(Alt-)Insuline

Die ersten Insulinzubereitungen waren schnell- und kurzwirkende saure Lösungen mit einem pH von 2,8-3,5, denen 0,8 % Natriumchlorid, 1,5 % Glycerin oder 5,4 % Glukose für die Isotonie zugesetzt wurden. Durch Verwendung hochgereinigten Insulins ist es jedoch gelungen, neutrale Alt-Insulin-Lösungen herzustellen, die eine erhöhte Hautverträglichkeit und Haltbarkeit aufweisen, wie z. B. Normalinsulin Leo^{R}, MC-Insulin Novo Actrapid^{R}.
Die unterschiedlich zugesetzten Konservierungsmittel wie 0,1 % - 0,25 % Phenol oder Kresol oder 0,1 % Methyl-, Äthyl- oder Propyl-para-hydroxybenzoat sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Siehe Tabelle 1: Altinsulinpräparate

- Verzögerungsinsuline

Die Verlängerung der Wirkungsdauer beruht auf einer verzögerten Absorption des injizierten Insulins, das an der Injektionsstelle in einen bei neutraler Gewebereaktion schwerlöslichen Zustand gebracht worden ist. Um die Wirkungsdauer des injizierten Insulins zu verlängern, wurden verschiedene Verfahren einer verzögerten Absorption entwickelt:

Tabelle 1 Altinsulinpräparate

Bezeichnung	Spezies	Reinheit	pH	Puffer-substanz	Konservierungs-mittel
Normalinsulin Brunnengräber	Rind	K	3	keine	Nip
Insulin Hoechst	Rind	K	3	keine	Nip
Insulin S Hoechst (CS)	Schwein	C	3	keine	Nip
Insulin Horm	Rind	K	3	keine	Phenol
Insulin SP Horm	Schwein	K	3	keine	Phenol
Normalinsulin Leo	Schwein	K	7	Phosphat	m-Kresol
MC-Insulin Novo Actrapid	Schwein	MC	7	Acetat	Nip

K = Kristallisation; C = Gelfiltrationschromatographie; MC = Monokomponent;
Nip = Nipaginester (Methyl-, Äthyl- oder Propyl-p-Hydroxybenzoat).

- Bildung eines Protamin-Insulin-Komplexes nach Zusatz bestimmter Proteine (Protamin bzw. Globin); z. T. Stabilisierung des Protein-Insulin-Komplexes durch stärkeren Zink-Zusatz als üblich.
  Bereits 1936 wurde das Protamin-Insulin entwickelt (HAGEDORN, JENSEN, KARUP und WODSTRUP), aber schon bald darauf durch Zusätze von Zink als Insulin-Zink-Protaminat stabilisiert (SCOTT und FISHER, 1935) und in seiner Wirkungsdauer verlängert (HAGEDORN). Diese Suspension enthält etwa 1,25 mg Protamin (aus Fischsperma) und 0,2 mg Zink auf 100 Einheiten Insulin.
  NPH-Insulin (N = neutrale Suspension, P = Protamin-Insulin, H = Entwicklung im Labor von HAGEDORN) enthält einen geringeren Protamin- und Zinkgehalt als Protamin-Zink-Insulin; außerdem liegen Insulin und Protamin in einem bestimmten Mischungsverhältnis vor, so daß weder ein Überschreiten der einen wie der anderen Komponente vorhanden ist (isophan) und beide im Insulin-Protamin-Komplex gebunden werden (s. MITTENZWEI, 1956).

- Bildung eines löslichen Insulin-Surfen-Komplexes bzw. einer Insulin-Surfen-Suspension nach Zusatz von Surfen.
  Bis 1938 hatte das Surfen-Insulin zunächst als Suspension mit neutraler Reaktion vorgelegen, ehe es DÖRZBACH gelang, ein klares Präparat herzustellen, indem er den Phosphatpuffer fortließ (SCHLICHTKRULL et al., 1975).
  Nach Injektion dieser salzartigen Verbindung von Insulin und Surfen (Bis|4-Aminochinaldin-6|-N,

N'-Harnstoff-Hydrochlorid) erfolgt eine schnelle Ausflockung im Gewebe. Die hierdurch bedingte verlangsamte Resorption bewirkt den Verzögerungseffekt. Heute liegen alle Surfen-Insuline in Monospezies- und als chromatographierte Präparate vor.

- Bildung von schwerlöslichen Insulin-Zinkkristallen nach Zinkzusatz, jedoch nur, wenn statt des üblichen Phosphat- ein Acetat-Puffer verwendet wird. HALLAS-MØLLER und Mitarbeiter (1952 und 1954) fanden heraus, daß sich nach Ersatz von Phosphat- durch einen Acetatpuffer protrahiert wirkende Insulin-Zink-Suspensionen herstellen ließen, ohne daß weitere Verzögerungssubstanzen benötigt werden.

Siehe Tabelle 2: Verzögerungsinsuline

Tabelle 2

Verzögerungsinsuline

Bezeichnung	Verzögerungs-substanz	Form	Spezies	Reinheit	pH
Protamin-Zink-Insulin	Protamin	Susp	Rind	K	7,3
Depotinsulin Brunnengräber	Protamin	Lö	Rind	K	~ 3,0
NPH-Insulin Leo	Protamin	K	Schwein	K	7,3
Depot-Insulin Horm	Protamin	Lö	Rind	K	3,0
HG-Insulin Hoechst CS	Human Globin	Lö	Schwein	C	3,0
HG-Insulin Hoechst CR	Human Globin	Lö	Rind	C	3,0
Depot-Insulin Hoechst Klar CR	Surfen	Lö	Rind	C	3,0
Depot-Insulin Hoechst CS	Surfen	Lö	Schwein	C	3,0
Depot-Komb.-Insulin Hoechst CR	Surfen	Lö	Rind	C	3,0
Depot-Komb.-Insulin Hoechst CS	Surfen	Lö	Schwein	C	3,0
Long Insulin Hoechst	Surfen	Susp	Schwein	C	7,0
MC Semilente	keine	Am	Schwein	MC	7,3
MC Monotard	keine	Am/K	Schwein	MC	7,3
Lente	keine	Am/K	Schw/Ri	K	7,3
Ultralente-Insulin Novo	keine	K	Rind	K	7,3
Rapitard	keine	K/Lö	Schw/Ri	K	7,0

Form : Lö = Lösung, K = Kristallpartikel, Am = amorphe Partikel, Susp = Suspension
Reinheit: K = Kristallisation, C = Gelfiltrationschromatographie, MC = Monokomponent

1.2.2.6 Aufbewahrung von Insulinpräparaten

Die Lagerung der Präparate sollte bei einer Temperatur von +3°C bis +10°C im Kühlschrank erfolgen, jedoch nicht im Gefrierfach. Die Präparate dürfen nicht längere Zeit dem Sonnenlicht ausgesetzt werden. Die Laufzeit der meisten handelsüblichen Präparate (Verfallsdatum beachten!) beträgt 1 1/2 bis 3 Jahre.

1.3 Klinische Wirkung der Insulin-Zubereitung

In den letzten 25 Jahren hat die Zahl der Insulinsorten durch die Einführung neuer Depot- und Kombinationspräparate einen beträchtlichen Umfang angenommen. Es ist deshalb für den behandelnden Arzt des öfteren nicht möglich, ausreichende Erfahrungen mit allen zur Verfügung stehenden Präparaten zu erlangen. Im allgemeinen genügen jedoch, um eine für die unterschiedliche Insulinbedürftigkeit bei den verschiedenen diabetischen Krankheitszuständen angemessene Differentialtherapie zu verfolgen, einige wenige Präparate, die man allerdings genau kennen sollte.
Für den therapeutischen Einsatz der einzelnen Insulinsorten muß bekannt sein, wie die Blutzuckersenkung unter den verschiedenen Präparaten abläuft. Die Eigenschaften eines Insulins und damit zu einem wesentlichen Teil auch die Indikation für seinen therapeutischen Einsatz werden bestimmt durch Initialeffekt, Wirkungsmaximum und Wirkungsdauer. (Siehe auch Tabelle 3).

Die Angaben über den Wirkungsablauf der verschiedenen handelsüblichen Präparate bei Diabetikern schwanken jedoch häufig, da eine Reihe von unterschiedlichen Faktoren eine einheitliche Beurteilung erschwert. So ist neben dem Grad der Stoffwechselstörung die Insulinansprechbarkeit von individuellen Gegebenheiten abhängig. Von wesentlicher Bedeutung ist auch die verabfolgte Dosis, da kleine Dosen eine kürzere Wirkungsdauer als höhere bedingen (DÖRZBACH und MÜLLER, 1971).

1.3.1 Normal-(Alt-)Insuline

Alt-Insulin, das etwa 15 - 30 Minuten vor einer Mahlzeit zu injizieren ist, hat bei subkutaner und intramuskulärer Applikation eine Wirkungsdauer von gut 6 Stunden. Der hypoglykämische Effekt setzt nach ca. 1/2 Stunde ein, das Wirkungsmaximum wird nach ca. 1 1/2 bis 3 Stunden entfaltet.
Bei intravenöser Anwendung - hierzu ist nur Alt-Insulin als einzige Zubereitung geeignet - ist der Initialeffekt nach 15 Minuten zu erwarten, das Wirkungsmaximum tritt nach 30 Minuten auf, und die Wirkungsdauer geht nicht über 2 Stunden hinaus.

1.3.2 Intermediär-Insuline

Diese Präparate nehmen, was Initialeffekt und Wirkungsdauer anbetrifft, eine Mittelstellung ein zwischen den Alt-Insulinen und den protrahiert wirkenden Depotpräparaten, vor allem dem Protamin-Zink-Insulin (STÖTTER, 1961; SAUER, 1964; siehe auch Tabelle 3).

Der Initialeffekt setzt nach ca. 1 bis 1 1|2 Stunden ein, das Wirkungsmaximum wird - je nach Präparat - nach ca. 3 bis 8 Stunden erreicht. Die Wirkungsdauer wird mit ca. 14 bis 26 Stunden angegeben, wobei sämtliche Zeitangaben unter den schon oben aufgeführten Einschränkungen (wie z. B. Höhe der Dosis, Applikationsort) zu sehen sind.
Wegen ihrer gegenüber den Langzeit-Insulinen doch erheblich kürzeren Wirkungsdauer eignen sich die Intermediär-Insuline besonders für die zweimalige Injektionsbehandlung pro Tag.
Um den Initialeffekt zu verstärken, wurden Mischinsuline entwickelt, die aus Alt-Insulin und Depot-Insulin (z.B. KOMB von "Hoechst": 1 Teil Alt-Insulin und 2 Teile Depot-Insulin) zusammengesetzt sind. Wird jedoch nicht auf die vorgefertigten Mischinsuline zurückgegriffen, kann man durch Zugabe von Alt-Insulin zu einem Intermediär-Insulin eine für den Patienten individuelle Kombination herstellen, die den Vorteil hat, daß sie entsprechend den Verhältnissen im täglichen Milieu geändert werden kann. Wieweit freie Mischungen mit Alt-Insulinen möglich sind, soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden.

1.3.3 Langzeit-Insuline

Protamin-Zink-, Ultralente- und Long-Insulin werden aufgrund ihrer Wirkungsdauer von über 24 bis 36 Stunden meist einmal täglich Patienten mit stabiler Stoffwechsellage injiziert. Das Intervall zwischen Injektion und Nahrungsaufnahme sollte zwischen 45 und 60 Minuten liegen, da der Initialeffekt erst nach ca. 2 bis

3 Stunden einsetzt und das Wirkungsmaximum erst nach 3 bis 5 Stunden erreicht wird, welches dann allerdings bis zur 10. Stunden anhält.

1.3.4 Kombinations-Insuline

Diese Präparate besitzen aufgrund ihrer Zusammensetzung einen verstärkten Initialeffekt nach ca. 1/2 Stunde und einen biphasischen Wirkungsablauf mit einer Wirkungsdauer von bis zu 24 Stunden.

Siehe Tabelle 3

		physical state			pH		species			purity		retarding substances	effect		
		sol	susp		a	n	P	B	PB	recryst.	highly purified	mg/100 units	initial	max (hours	final
			A	C											
RAPID	Regular (ALT NORMAL)	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	-	½	3	6
INTERMEDIATE	NPH (Isophane)	–	–	+	–	+	+	+	+	+	+	0.3–0.6 mg protamine	1½	6	18
	Depot (Horm.)®	+	–	–	+	–	+	+	–	+	+	0.6 mg protamine + 0.15 mg Zn	1	5	18
	Semilente	–	+	–	–	+	+	–	–	+	+	0.2–0.25 mg Zn	1	5	14
	Lente	–	A & C		–	+	–	–	+	+	–	0.2–0.25 mg Zn	1½	8	26
	Monotard®	–	A & C		–	+	+	–	–	–	+	0.2–0.25 mg Zn	1½	6	18
	Depot(Hoechst)®	+	–	–	+	–	+	+	–	+	+	0.4 mg Surfen®	1½	4	16
	KOMB(Hoechst)®	+	–	–	+	–	+	+	–	+	+	0.28 mg Surfen®	1	3	14
	Globin Insulin	+	–	–	+	–	+	+	–	+	+	2–4 mg globin + 0.3 mg Zn	1½	5	16
SLOW	ZPI (zinc protamine insulin)	–	+	+	–	+	+	+	+	+	–	1.25 mg protamine + 0.2 mg Zn	3	10	48
	Ultralente	–	–	+	–	+	–	+	–	+	–	0.2–0.25 mg Zn	3	10	72
	Long-Insulin®	–	A & C		–	+	+	–	–	+	+	0.12 mg Surfen®	3	8	26
BIPHASIC	Initard®	–	–	+	–	+	+	–	–	+	+	0.15–0.3 mg protamine	½	5	16
	Rapitard®	–	–	+	–	+	–	–	+	+	–	-	½	7	24

Tabelle 3: Charakteristika verschiedener Insulinpräparate
sol. = Lösung, susp. = Suspension, A = amorph, C = kristallin, a = azid, n = neutral, P = Schweine-Insulin, B = Rinder-Insulin, PB = Mischinsulin Rind/Schwein
(aus: R. LUFT, 1976)
Die in dieser Tabelle aufgeführten Zeiten für Initialeffekt, Wirkungsmaximim und Wirkungsdauer sind unter den vorgenannten Einschränkungen (wie z. B. Höhe der Dosis, Applikationsort) zu sehen.

2. METHODEN und EXPERIMENTE

Bei den Untersuchungen wurden folgende Insuline verwandt:

1. Actrapid^{R}/Monotard^{R}
2. Leo-Alt^{R}/Leo-NPH retard^{R}

Actrapid^{R}: klare, neutrale Lösung aus Schweineinsulin

Monotard^{R}: Suspension aus amorphen und kristallinen Partikeln aus Schweineinsulin

Leo-Alt^{R}: kristalline Lösung aus Schweineinsulin

Leo-NPH retard^{R}: neutrale, trübe Suspension von Insulin-Protaminat-Kristallen aus Schweineinsulin

2.1 Versuchsplan

Als Probanden wurden 12 männliche normgewichtige Normalpersonen im Alter zwischen 20 und 30 Jahren gewählt, aufgeteilt in 2 Gruppen zu jeweils 6 Personen für die Untersuchungen von

(1) Actrapid^{R}/Monotard^{R} und
(2) Leo-Alt^{R}/Leo-NPH retard^{R}.

Als Injektionsort wurde jeweils die Vorderseite des Oberschenkels gewählt; die Probanden erschienen morgens nüchtern zur Untersuchung und befanden sich während des gesamten Experimentes in Ruhe.

Die Blutabnahmen erfolgten über eine Braunüle (unter 0,9 % NaCl) aus einer Ellenbeugen-Vene zu folgenden Zeiten:

-15, 0, 10, 20, 30, 40, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 Min. Die Injektion erfolgte bei 0 Minuten.

Folgende Blut-Parameter wurden untersucht:

- Glukose
- Insulin
- Laktat *
- Pyruvat *
- FFS *
- AcAc *
- BOH *

Die mit * gekennzeichneten Blut-Parameter wurden nur zu den Blutabnahmezeiten -15, 0, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten bestimmt.

2.2 Analytische Methoden

Die Stoffwechselmetaboliten wurden mit folgenden Routine-Labormethoden bestimmt:

- Glukose (GRADY & LAMAR, 1959)
- Laktat (HOHORST, 1970)
- Pyruvat (BÜCHER, CZOK, LAMPRECHT & LATZKO, 1963)
- freie Fettsäuren (LOCHNER & NASSEN, 1960)
- Ketonkörper als Summe aus ß-Hydroxybutyrat (WILLIAMSON, 1970) und Acetoacetat (MELLANBY, 1970)

Die Serum-Konzentrationen von Insulin - IRI - wurden mit Hilfe spezifischer Radioimmunoassays (WIDE & PORATH, 1966) gemessen.

2.3 Versuchsdurchführung

Die Versuche erstreckten sich auf jeweils vier Programme; nach einer Randomisierungsliste erhielten die Probanden im Wechsel 10 E Alt-Insulin und 16 E Verzögerungsinsulin in folgender Kombination:

2.3.1 Actrapid^{R}/Monotard^{R}

Programm a) 10 E Actrapid^{R} allein s.c. injiziert

Programm b) 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} getrennt s.c. in beide Oberschenkel inj.

Programm c) 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} zusammen in einer Spritze, unmittelbar nach dem Mischen s.c. injiziert

Programm d) 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} zusammen in einer Spritze, 5 Min. nach dem Mischen in der Spritze s.c. injiziert

2.3.2 Leo-Alt^{R}/Leo-NPH retard^{R}

Programm a) 10 E LEO-Alt^{R} allein s.c. injiziert

Programm b) 10 E LEO-Alt^{R} und 16 E Leo-NPH retard^{R} getrennt s.c. in beide Oberschenkel inj.

Programm c) 10 E LEO-Alt^{R} und 16 E LEO-NPH retard^{R} zusammen in einer Spritze, unmittelbar nach dem Mischen s.c. injiziert

Programm d) 10 E LEO-Alt^{R} und 16 E LEO-NPH retard^{R} zusammen in einer Spritze, 5 Minuten nach dem Mischen in der Spritze s.c. injiziert

Nach Abschluß der Untersuchungen nahmen die Probanden eine kohlenhydratreiche Mahlzeit ein, um mögliche Hypoglykämien zu vermeiden.

2.4 Statistische und pharmakokinetische Berechnungen

Folgende statistische Berechnungen wurden benutzt:

A) Mittelwert:

$$\bar{x} = \frac{x_i}{n}$$

n = Anzahl der Messungen

B) Standardabweichung (SD):

$$s_x = \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

C) Mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM):

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x^2}{n}$$

D) Der Unterschied zwischen zwei Mittelwerten von verschiedenen Gruppen wurde anhand des t-Testes nach Student auf Signifikanz geprüft:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\frac{s^2_{x_1}}{n_1} + \frac{s^2_{x_2}}{n_2}}$$

Wurden identische Gruppen unter verschiedenen Versuchbedingungen untersucht, so wurden die Unterschiede mit dem gepaarten t-Test auf Signifikanz geprüft:

$$t_{n-1} = \frac{\bar{d}}{\frac{s_d}{n}}$$

wobei $\bar{d} = \frac{d_i}{n}$ oder $= \bar{x}_1 - \bar{x}_2$ ist, in Worten dem Mittelwert der Differenzen oder der Differenz der Mittelwerte entspricht. s_d ist die Standardabweichung der Differenzen.
$P < 0{,}05$ wurde entsprechend einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % als signifikant angenommen.

E) Berechnung von $Conc._{max.}$ und $T_{conc.max.}$:

Aus den höchsten Serum-Insulin-Konzentrationen der einzelnen Probanden einer Untersuchungsgruppe wurde die maximale Hormonkonzentration = IRI-$Conc._{max.}$ in µU/ml - errechnet. Der Zeitpunkt, zu dem die maximale Insulin-Konzentration erreicht

wurde, wird als $T_{max.}$ Minuten der jeweiligen Untersuchungsgruppe bezeichnet. Die Angaben erfolgen als Mittelwerte $\pm$ SEM.

F) Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve:

Die Fläche unter der Hormonkurve (AUC = area under the curve) wurde berechnet unter Auflösung des Flächenintegrals nach der Trapezoidregel (KLOTZ, 1979) und Aufsummation der trapezförmigen Segmente nach:

$$Cdt = AUC = \frac{1}{2} (y_{n-1} + y_n) \cdot (x_n - x_{n-1})$$

mit y = Konzentration am jeweiligen Messpunkt
und x = Zeit am jeweiligen Messpunkt

G) Berechnung der prozentualen Bioverfügbarkeit von Insulin:

Aus den Flächen der Insulin-Konzentrations-Kurven der verschiedenen Versuchbedingungen wurde die prozentuale Bioverfügbarkeit des injizierten Insulins innerhalb der ersten 90 Minuten errechnet (RITSCHEL, 1973):

$$\% \text{ BV} = \frac{AUC_X}{AUC_S} \cdot 100$$

BV = Bioverfügbarkeit,

AUC_S = Standardfläche der Kontrollgruppe, die mit 100 % angenommen wurde.

AUC_X = jeweilige Vergleichsfläche, die Abweichungen vom Kontrollkollektiv werden als Δ % angegeben.

3. ERGEBNISSE

3.1 Actrapid^{R}/Monotard^{R}

Programm a):

Das Serum-Insulin steigt von einer Konzentration von etwa 5 µU/ml bei -15 Minuten nach der Injektion von 10 E Actrapid^{R} bei 0 Minuten auf eine maximale Konzentration von 19,5 $\pm$ 2,0 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$) kontinuierlich an, um dann langsam abzufallen. Diese Konzentrationsspitze wurde bei 70 $\pm$ 15 Minuten (IRI-T$_{max.}$) errechnet.
Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1123 $\pm$ 107 innerhalb der ersten 90 Minuten.

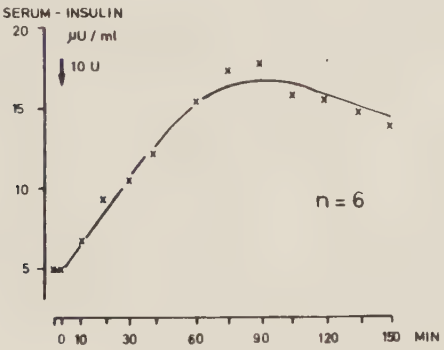


Abb. 2: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von 10 E Actrapid^{R}

Der Blutglukosespiegel vermindert sich von etwa 85 mg/dl bei -15 Minuten - was dem Wert nach 8- bis 12-stündigem Fasten entspricht - nach der Injektion bei 0 Minuten auf einen Niedrigstwert bei 135 Minuten von 56,67 mg/dl.

Werte siehe Tabelle 4.

Tabelle 4

ACTRAPID^{R}/MONOTARD^{R}

Seruminsulin und Blutglukose
n = 6, Mittelwerte ± SEM

	-15	0	10	20	30	40	60	75	90	105	120	135	150	Min.
Programm a)														
IRI	5±0	5±0	7±1	9±2	11±1	12±1	15±3	17±2	18±2	16±1	16±1	15±2	13±2	µU/ml
Glukose	85±3	87±3	86±3	86±3	82±3	77±4	66±4	60±8	58±6	59±4	57±4	57±4	58±4	mg/dl
Programm b)														
IRI	6±2	7±2	10±4	13±3	15±3	16±3	20±2	20±3	20±4	19±4	17±3	17±3	13±2	µU/ml
Glukose	93±5	92±4	90±4	89±2	82±4	80±4	77±6	66±6	66±3	64±3	63±4	62±5	67±5	mg/dl
Programm c)														
IRI	6±1	7±1	8±1	11±2	16±4	15±4	18±4	19±5	18±4	17±3	18±3	17±3	15±2	µU/ml
Glukose	92±4	91±4	91±4	90±4	86±4	82±4	74±5	70±7	69±5	69±4	67±5	65±5	65±1	mg/dl
Programm d)														
IRI	6±1	6±1	7±1	8±1	10±1	11±2	12±2	14±2	17±2	18±3	15±2	16±2	16±2	µU/ml
Glukose	85±1	86±1	87±1	85±1	82±2	80±3	74±4	70±5	67±6	66±4	64±3	65±2	65±2	mg/dl

Tabelle 5

Maximale Serum-Insulin-Konzentrationen
Zeitpunkt der maximalen Serum-Insulin-Konzentrationen
Fläche unter der Insulin-Konzentrations-zeitkurve
ACTRAPID^{R}/MONOTARD^{R}
n = 6, Mittelwerte ± SEM
* $p < 0,05$ im gepaarten T-Test (gegen Programm c)

Programm	IRI-Conc.$_{max.}$ (µU/ml)	IRI-T$_{max.}$ (Min.)	AUC (µU/ml x Min.)
a) 10 E Alt-Insulin	19,5 ± 2,0	70 ± 15	1123 ± 107
b) 10 E Alt + 16 E Intermediär-Insulin getrennt s.c. injiziert	23,3 ± 3,3	83 ± 12	1440 ± 262
c) 10 E Alt + 16 E Intermediär-Insulin gemischt, sofort injiziert	21,4 ± 3,8	98 ± 13	1296 ± 332
d) 10 E Alt + 16 E Intermediär-Insulin gemischt, nach 5 Minuten injiziert	20,0 ± 2,2	110 ± 11*	1027 ± 105

Programm b):

Bei der s. c. Injektion von 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} getrennt in beide Oberschenkel steigt das Serum-Insulin von einer Konzentration von ca. 6 µU/ml bei -15 Minuten nach der Injektion bei 0 Minuten auf eine maximale Konzentration von 23,3 $\pm$ 3,3 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$) an, um dann wieder abzufallen. Diese Konzentrationsspitze wurde bei 83 $\pm$ 12 Minuten (IRI-$T_{max.}$) errechnet.
Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1440 $\pm$ 262 innerhalb der ersten 90 Minuten.

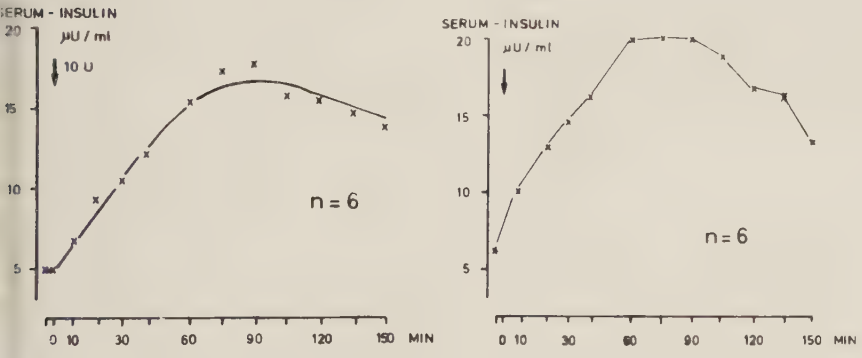


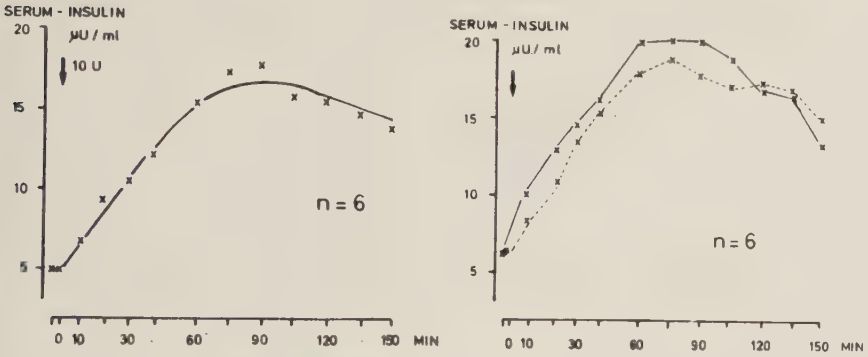
Abb. 3: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von a): 10 E Actrapid^{R} und b): 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} getrennt in beide Oberschenkel

Die Kurve b) hat einen ähnlichen Verlauf wie die aus dem Programm a), jedoch ist bereits in den ersten Minuten nach der Injektion eine höhere Serum-Insulin-Konzentration festzustellen, so daß die Kurve von Programm b) einen insgesamt etwas steileren Anstieg zeigt und auch - wie bereits oben genannt - einen höheren Maximalwert erreicht.
Der Blutglukose-Spiegel fällt von etwa 93 mg/dl (bei -15 Minuten) nach der Insulin-Applikation auf einen Niedrigstwert von 62,1 mg/dl (bei 135 Minuten).

Werte siehe Tabelle 4

Programm c):

Bei dieser unmittelbar nach dem Mischen beider Insuline (10 E Actrapid^{R} sowie 16 E Monotard^{R}) in einer Spritze erfolgten s. c. Injektion zeigt sich ein Anstieg des Serum-Insulin-Spiegels ausgehend von einer Nüchternblut-Konzentration von ca. 6 µU/ml bei -15 Minuten auf einen Wert von 21,4 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$); danach erfolgt wieder ein langsamer Abfall der Serum-Insulin-Konzentration. Die Konzentrationsspitze wurde bei 98 $\pm$ 13 Minuten (IRI-T$_{max.}$) errechnet.
Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1296 $\pm$ 332 innerhalb der ersten 90 Minuten.



Injektion getrennt b) —x—x—
Injektion sofort c) ----x----x----

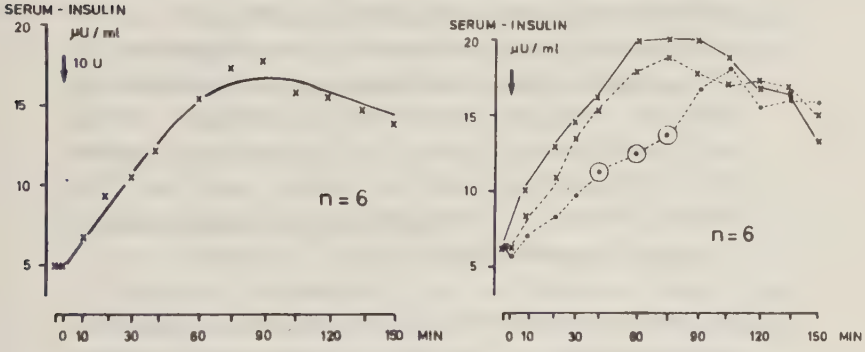
Abb. 4: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von a): 10 E Actrapid^{R} und b)/c): 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R}

Der Verlauf der Kurve c) liegt während der ersten 100 Minuten zwischen den Kurven aus Programm a) und b), nach diesem Zeitpunkt ist kein nennenswerter Unterschied festzustellen. Insgesamt gesehen zeigen alle drei Kurven einen sehr ähnlichen Verlauf; es ergibt sich kein signifikanter Unterschied.
Die Blutglukose-Werte vermindern sich im Programm c) von ca. 88 mg/dl, gemessen bei -15 Minuten, auf einen Niedrigstwert von 52,33 mg/dl, gemessen bei 105 Minuten.

Werte siehe Tabelle 4

Programm d):

Nach dem Mischen von 10 E Actrapid^{R} sowie 16 E Monotard^{R} in einer Spritze wurde diese Mischung 5 Minuten liegengelassen und erst nach dem Zeitraum von 5 Minuten s. c. injiziert.
Bei diesem Versuch wurde erst nach 110 $\pm$11 Minuten (IRI-$T_{max.}$) die maximale Serum-Insulin-Konzentration von 20,0 $\pm$ 2,2 µU/ml (IRI-$Conc._{max.}$) errechnet, ausgehend von einem Nüchternblut-Wert von ca. 6 µU/ml bei -15 Minuten.



Injektion getrennt b) —x—x—
Injektion sofort c) ---x---x--
Injektion nach 5 Min. d) ---•---•---

Abb. 5: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von a): 10 E Actrapid^{R} (linke Bildhälfte) und b) bis d): 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} (rechte Bildhälfte)

Der Anstieg der Kurve d) bis zur maximalen Konzentration ist flacher und verläuft auf einem niedrigeren Niveau als die vergleichbaren Kurven der Programme b) und c), was aus der Abb. 5 deutlich hervorgeht. An den mit einem Kreis ⊙ gekennzeichneten Punkten - zwischen 30 und 90 Minuten - sind die gemessenen Werte sogar signifikant niedriger als die vergleichbaren Werte aus Programm c) - sofortige s. c. Injektion von 10 E Actrapid^{R} und 16 E Monotard^{R} unmittelbar nach dem Mischen -, während die Bestimmung von IRI-$Conc._{max.}$ keine signifikanten Unterschiede in der gewählten Kombination ergibt.

Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1027 $\pm$ 105.

Die Berechnung der prozentualen Bioverfügbarkeit aus den jeweiligen Flächen unter den Insulin-Konzentrations-Zeitkurven zeigt eine Reduktion der biologisch verfügbaren Insulinmenge um ca. 20 %, wenn die Injektion des Insulingemisches erst 5 Minuten nach der Vermischung erfolgt - im Vergleich zur sofortigen Injektion nach der Insulinmischung.

Die Blutglukose-Konzentrationen zeigen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur sofortigen Injektion nach Mischung der verschiedenen Insuline.

Verlauf der Blut-Paramenter Laktat, Pyruvat, FFS, AcAc und BOH in den Programmen a) bis d)

Konzentration freier Fettsäuren im Serum:
Die durch Insulin bewirkte Hemmung der Lipolyse zeigt sich in einer Serum-Konzentrationsabnahme der freien Fettsäuren, wobei die Unterschiede in den einzelnen Programmen a) bis d) nicht signifikant sind.

Werte siehe Tabelle 6

Blutketonkörper (Acetoacetat + ß-Hydroxybutyrat):
Daß die Bildung von Ketonkörpern unter dem Einfluß von Insulin gehemmt ist, zeigt sich in einer Abnahme der Serum-Konzentration; auch hier ist kein Unterschied zwischen den Programmen a) bis d) zu erkennen.

Werte siehe Tabelle 6

Serum-Pyruvat-Konzentration:
Die gemessenen Pyruvat-Werte bleiben während der gesamten Versuchdauer von 150 Minuten nahezu konstant, wobei kein Unterschied zwischen den Programmen a) bis d) zu sehen ist.

Werte siehe Tabelle 6

Die Laktat-Spiegel steigen gegen Ende der Versuchsdauer an.

Werte siehe Tabelle 6

Tabelle 6 ACTRAPID^{R}/MONOTARD^{R}

Freie Fettsäuren, Pyruvat, Laktat und Ketonkörper
n = 6, Mittelwerte ± SEM

		-15	0	30	60	90	120	150
Programm a)								
FFS (µmol/l)	MW	232	234	159	114	110	115	136
	SEM	40	31	26	21	13	24	32
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,07	0,09	0,08	0,08	0,08	0,1	0,08
	SEM	0,01	0,00	0,009	0,009	0,009	0,01	0,009
Laktat (mmol/l)	MW	0,67	0,67	0,65	0,76	0,75	0,90	0,94
	SEM	0,11	0,07	0,07	0,10	0,10	0,09	0,10
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,24	0,16	0,14	0,15	0,15	0,14	0,18
	SEM	0,08	0,01	0,01	0,02	0,03	0,01	0,02
Programm b)								
FFS (µmol/l)	MW	376	353	222	168	119	124	135
	SEM	53	37	33	32	13	25	25
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,08	0,08	0,07	0,08	0,09	0,09	0,08
	SEM	0,01	0,01	0,008	0,01	0,01	0,01	0,008
Laktat (mmol/l)	MW	1,37	0,97	0,66	0,81	0,86	0,83	0,93
	SEM	0,46	0,18	0,07	0,05	0,11	0,08	0,08
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,29	0,31	0,21	0,19	0,16	0,17	0,16
	SEM	0,08	0,05	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02
Programm c)								
FFS (µmol/l)	MW	351	335	231	153	152	136	128
	SEM	71	39	37	26	26	19	19
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,06	0,06	0,07	0,07	0,08	0,08	0,07
	SEM	0,01	0,006	0,004	0,007	0,009	0,007	0,007
Laktat (mmol/l)	MW	0,62	0,61	0,75	0,67	0,84	0,74	0,78
	SEM	0,11	0,06	0,14	0,06	0,09	0,07	0,10
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,19	0,20	0,22	0,15	0,17	0,14	0,16
	SEM	0,05	0,04	0,03	0,01	0,01	0,01	0,02
Programm d)								
FFS (µmol/l)	MW	305	330	244	185	160	177	162
	SEM	40	39	23	20	17	27	31
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07	0,07	0,07
	SEM	0,01	0,01	0,01	0,007	0,008	0,009	0,01
Laktat (mmol/l)	MW	0,88	0,75	0,73	0,71	0,72	0,80	0,97
	SEM	0,25	0,18	0,13	0,08	0,11	0,09	0,12
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,27	0,25	0,19	0,15	0,13	0,12	0,16
	SEM	0,04	0,04	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02

3.2 Leo-Alt^R/Leo-NPH retard^R

Programm a):

Das Serum-Insulin steigt von einer Konzentration von knapp 6 µU/ml zum Zeitpunkt der Injektion von 10 E Leo Alt^R auf eine maximale Konzentration von 17,6 ± 2,6 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$) stetig an. Das Konzentrationsmaximum wurde bei 70 ± 11 Minuten errechnet.

Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1134 ± 143 innerhalb der ersten 90 Minuten.

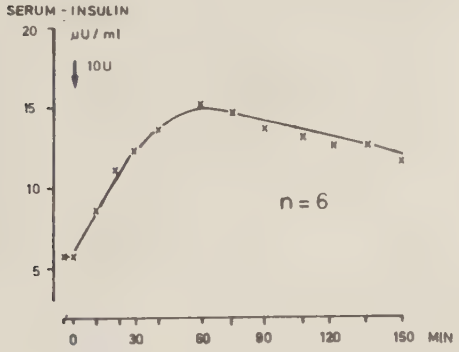


Abb. 6: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von 10 E Leo-Alt^R

Die Blutglukosewerte vermindern sich von etwa 80 mg/dl gemessen vor der Injektion von 10 E Leo-Alt^{R} auf einen Niedrigstwert von 56,6 mg/dl nach 75 Minuten.

Werte siehe Tabelle 7

Tabelle 7

LEO-ALT^{R}/LEO-NPH RETARD^{R}

Seruminsulin und Blutglukose
n = 6, Mittelwerte ± SEM

	-15	0	10	20	30	40	60	75	90	105	120	135	150	Min.
Programm a)														
IRI	6±1	6±1	9±3	11±3	12±3	14±2	15±2	15±1	14±2	13±2	13±2	13±3	12±2	µU/ml
Glukose	80±1	81±2	81±2	79±2	74±5	68±6	62±3	57±5	57±3	58±2	58±3	57±2	59±2	mg/dl
Programm b)														
IRI	6±1	6±1	9±3	12±3	13±3	14±2	17±2	16±1	16±2	16±2	15±2	14±3	14±2	µU/ml
Glukose	81±2	81±2	82±2	78±3	75±3	70±4	58±4	52±3	53±3	55±3	52±4	51±3	53±2	mg/dl
Programm c)														
IRI	7±1	7±1	7±0	10±2	13±2	15±2	17±3	16±3	15±3	13±3	14±3	14±3	12±2	µU/ml
Glukose	88±6	90±6	86±3	85±2	80±2	74±3	59±5	53±5	54±3	52±3	54±2	54±3	53±1	mg/dl
Programm d)														
IRI	6±2	6±2	9±2	11±2	15±5	17±4	16±2	17±1	18±3	18±2	16±2	15±2	16±2	µU/ml
Glukose	83±1	82±3	81±3	83±3	79±3	75±4	65±6	56±5	53±4	51±2	51±2	51±2	55±2	mg/dl

Tabelle 8

Maximale Serum-Insulin-Konzentrationen
Zeitpunkt der maximalen Serum-Insulin-Konzentrationen
Fläche unter der Insulin-Konzentrationszeitkurve
LEO-ALT^{R}/LEO-NPH RETARD^{R}
n = 6, Mittelwerte ± SEM

Programm	IRI-Conc.$_{max.}$ (µU/ml)	IRI-T$_{max.}$ (Min.)	AUC (µU/ml x Min.)
a) 10 E Alt Insulin	17,6 ± 2,6	70 ± 11	1134 ± 143
b) 10 E Alt + 16 E Intermediär-Insulin getrennt s.c. injiziert	18,8 ± 2,6	60 ± 10	1242 ± 215
c) 10 E Alt + 16 E Intermediär-Insulin gemischt, sofort injiziert	18,3 ± 3,2	64 ± 13	1225 ± 205
d) 10 E Alt + 16 E Intermediär-Insulin gemischt, nach 5 Minuten injiziert	22,9 ± 3,7	68 ± 9	1281 ± 235

Programm b):

Bei der subkutanen Injektion von 10 E Leo-Alt^{R} sowie 16 E Leo-NPH retard^{R} getrennt in beide Oberschenkel steigt das Serum-Insulin von einer Konzentration von ca. 5,7 µU/ml (bei -15 Minuten) nach der Injektion bei 0 Minuten auf eine maximale Konzentration von 18,8 $\pm$ 2,6 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$) an, um dann sehr langsam abzufallen. Diese Konzentrationsspitze wurde bei 60 $\pm$ 10 Minuten (IRI-T$_{max.}$) errechnet.
Die Kurve b) hat einen ähnlichen Verlauf wie diejenige aus Programm a), es wird lediglich ein geringfügig höherer Maximalwert erreicht.
Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1242 $\pm$ 215 innerhalb der ersten 90 Minuten.

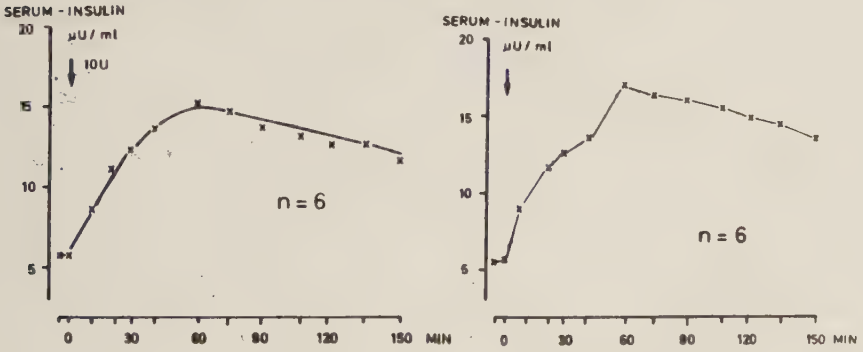


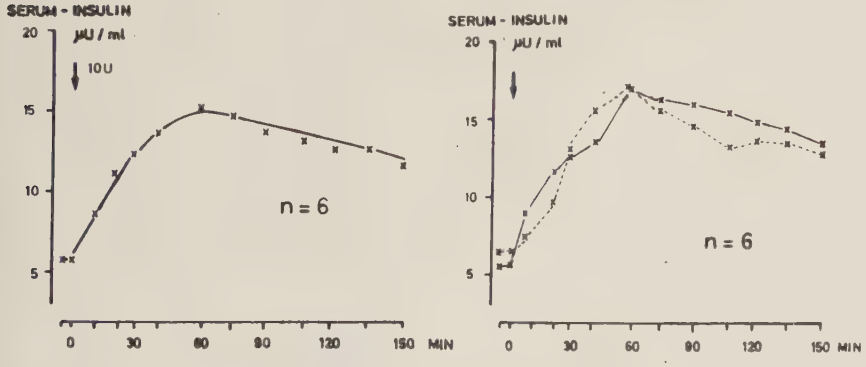
Abb. 7: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von a): 10 E Leo-Alt^{R} (linke Bildhälfte) und b): 10 E Leo-Alt^{R} und 16 E Leo-NPH retard^{R} getrennt in beide Oberschenkel (rechte Bildhälfte)

Die Blutglukosewerte verringern sich von etwa 81 mg/dl bei -15 Minuten auf einen Niedrigstwert von 51,3 mg/dl, gemessen 135 Minuten nach der Injektion.

Werte siehe Tabelle 7

Programm c):

Bei dieser unmittelbar nach dem Mischen beider Insuline (10 E Leo-Alt^{R} und 16 E Leo - NPH retard^{R}) in einer Spritze s. c. erfolgten Injektion zeigt sich ein Anstieg des Serum-Insulins ausgehend von einer Nüchternblut-Konzentration von 6,5 µU/ml bei -15 Minuten auf einen Wert von 18,3 $\pm$ 3,2 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$); danach erfolgt wieder ein langsamer Abfall der Serum-Insulin-Konzentration. Die Konzentrationsspitze wurde bei 64 $\pm$ 13 Minuten (IRI-T$_{max.}$) errechnet.
Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1225 $\pm$ 205.
Die Kurven der Programme b) und c) zeigen einen ähnlichen Verlauf und unterscheiden sich kaum von derjenigen aus Programm a). (Siehe Abb. 8)



Injektion getrennt b) —x—x—
Injektion sofort c) ---x---x---

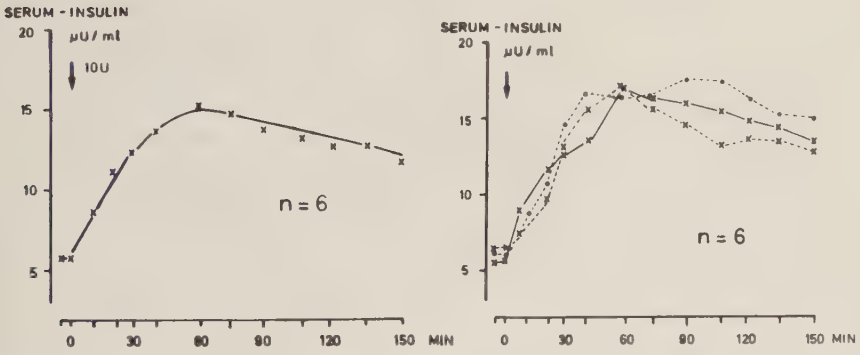
Abb. 8: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von a): 10 E Leo-Alt^{R} (linke Bildhälfte) und b)/c): 10 E Leo-Alt^{R} und 16 E Leo-NPH retard^{R} (rechte Bildhälfte)

Der Blutglukose-Spiegel verringert sich von etwa 88 mg/dl, gemessen bei -15 Minuten, auf einen Niedrigstwert von 52,3 mg/dl, gemessen 105 Minuten nach der Injektion.

Werte siehe Tabelle 7

Programm d):

Nach dem Mischen von 10 E Leo-Alt^{R} sowie 16 E Leo-NPH retard^{R} in einer Spritze wurde diese Mischung erst nach einem Zeitraum von 5 Minuten injiziert. Ausgehend von einem Nüchternblut-Wert von ca. 6 µU/ml bei -15 Minuten wird die maximale Serum-Insulin-Konzentration von 22,9 ± 3,7 µU/ml (IRI-Conc.$_{max.}$) nach 68 ± 9 Minuten (IRI-T$_{max.}$) errechnet.
Die Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve ergibt einen Wert von 1281 ± 235 innerhalb der ersten 90 Minuten.



Injektion getrennt b) —x—x—
Injektion sofort c) ---x---x---
Injektion nach 5 Minuten d) ---•---•---

Abb. 9: Serum-Insulin-Konzentration nach subkutaner Injektion von a): 10 E Leo-Alt^{R} (linke Bildhälfte) und b) bis d): 10 E Leo-Alt^{R} und 16 E Leo-NPH retard^{R} (rechte Bildhälfte)

Die Kurve d) zeigt einen ähnlichen Verlauf wie diejenigen aus den Programmen a) bis c). (Siehe Abb. 9)
Der Blutglukose-Spiegel fällt von ca. 83 mg/dl, gemessen bei -15 Minuten, auf einen Minimalwert von 50,6 mg/dl 105 Minuten nach der Insulin-Applikation.

Werte siehe Tabelle 7

Verlauf der Blut-Parameter Laktat, Pyruvat, FFS AcAc und BOH in den Programmen a) bis d)

Konzentration freier Fettsäuren im Serum:
Wie im Programm Actrapid^{R}/Monotard^{R} nimmt die Serum-Konzentration der freien Fettsäuren ab (siehe hierzu Tabelle 9); es zeigt sich kein Unterschied zwischen den Programmen a) bis d).

Blutketonkörper:
Auch hier ist kein Unterschied zum einen zwischen den Programmen a) bis d) sowie zur Reihe Actrapid^{R}/Monotard^{R} zu erkennen.

Werte siehe Tabelle 9

Dasselbe gilt für die gemessenen Serum-Pyruvat-Konzentrationen sowie für den Laktat-Spiegel.

Werte siehe Tabelle 9

Tabelle 9 LEO-ALT^{R}/LEO-NPH RETARD^{R}

Freie Fettsäuren, Pyruvat, Laktat und Ketonkörper
n = 6, Mittelwert ± SEM

		-15	0	30	60	90	120	150 N
Programm a)								
FFS (µmol/l)	MW	278	266	206	159	152	165	169
	SEM	25	26	21	13	22	30	32
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06
	SEM	0,01	0,01	0,007	0,007	0,006	0,004	0,009
Laktat (mmol/l)	MW	0,88	0,82	0,59	0,81	0,79	0,80	0,97
	SEM	0,26	0,15	0,07	0,09	0,04	0,07	0,10
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,20	0,19	0,14	0,16	0,14	0,15	0,17
	SEM	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03
Programm b)								
FFS (µmol/l)	MW	268	327	227	129	175	159	188
	SEM	31	36	27	21	48	24	28
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07
	SEM	0,008	0,007	0,006	0,004	0,006	0,007	0,007
Laktat (mmol/l)	MW	0,77	0,57	0,61	0,60	0,82	0,99	1,03
	SEM	0,12	0,06	0,07	0,08	0,08	0,21	0,16
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,15	0,15	0,15	0,12	0,12	0,16	0,17
	SEM	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02
Programm c)								
FFS (µmol/l)	MW	246	271	196	116	135	145	162
	SEM	41	63	48	25	35	25	33
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,07	0,07	0,07	0,05	0,06	0,07	0,07
	SEM	0,01	0,01	0,01	0,007	0,008	0,007	0,005
Laktat (mmol/l)	MW	1,08	0,76	0,67	0,64	0,88	0,88	0,95
	SEM	0,41	0,12	0,07	0,08	0,14	0,14	0,11
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,18	0,16	0,16	0,13	0,14	0,15	0,17
	SEM	0,03	0,02	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03
Programm d)								
FFS (µmol/l)	MW	216	233	182	122	108	123	149
	SEM	26	32	20	10	11	10	6
Pyruvat (mmol/l)	MW	0,05	0,06	0,05	0,05	0,06	0,07	0,07
	SEM	0,006	0,007	0,009	0,009	0,007	0,01	0,008
Laktat (mmol/l)	MW	0,56	0,58	0,59	0,58	0,82	0,92	0,95
	SEM	0,07	0,05	0,07	0,07	0,13	0,17	0,14
Ketonkörper (mmol/l)	MW	0,11	0,14	0,13	0,10	0,14	0,15	0,16
	SEM	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,03

4. DISKUSSION

Wie bereits zuvor erwähnt, werden Intermediär-Insuline mit Alt-Insulinen gemischt, um eine Verstärkung des Initialeffekts zu erzielen und um eine für den Patienten individuelle Kombination herstellen zu können.
So wird in der Literatur berichtet, daß sich durch eine Kombination von kurz- und langwirkenden Insulinen optimale Stoffwechseleinstellungen erreichen lassen (JOVANOVIC, 1980; TCHOBROUTSKY, 1980); jedoch liegen bislang noch keine Untersuchungen über die Absorptionskinetik dieser Insulinmischungen vor.
Aufgrund der unterschiedlichen Präparationen von Alt- und Intermediär-Insulinen ist es denkbar, daß es zu Wechselwirkungen zwischen beiden Insulinen kommen kann.

Interaktionen finden sich häufig zwischen Arzneistoffen; so kann ein Arzneistoff entweder die therapeutische Wirksamkeit eines anderen, gleichzeitig gegebenen Arzneistoffes steigern oder herabsetzen. Dies kann verschiedene Ursachen haben, entweder durch direkte chemische oder physikalische Inkompatibilität, durch Veränderung der gastro-intestinalen Absorption, durch Beeinflussung des Metabolismus, der Verteilung und der Ausscheidung sowie durch Veränderung der Aktivität des Arzneistoffes in der Biophase. Die vorgenannten Inkompatibilitäten schließen die sogenannten "Cocktail-Injektionen", die Mischung zweier oder mehrerer Injektionsflüssigkeiten, ein, die zur Präzipitation des einen oder anderen Arzneistoffes, zur Flockulation, Entfärbung, Inaktivierung usw. oft ohne sichtbares Zeichen durch pH-Wechsel

führen können (RITSCHEL, 1973).
HARROWER, DUNCAN und CLARKE, 1975, wiesen in ihrer Arbeit auf die ungünstigen Effekte beim Mischen von Alt-Insulin mit Protamin-Zink-Insulin hin.
Sie untersuchten dabei Patienten mit juvenilem Typ Diabetes, wobei sie lediglich den Blutzuckerverlauf über einen Zeitraum von 24 Stunden aufzeichneten, aber keine Insulin-Messungen vornahmen.
HARROWER führte aus, daß durch das Mischen von Alt-Insulin mit Protamin-Zink-Insulin in einer Spritze mit der Verminderung des Initialeffektes und der Gefahr eines verlängerten Hypoglykämie-Risikos während der Nachtstunden gerechnet werden müsse, wobei aber keine genauen klinischen Untersuchungen über diese Effekte vorlägen.
Als Ursache für die Verminderung des Initialeffektes sowie die Gefahr eines verlängerten Hypoglykämie-Risikos während der Nachtstunden beim Mischen beider Insuline vor der Injektion nahm HARROWER eine mögliche Konversion von Alt-Insulin in Protamin-Zink-Insulin durch freie Zinkionen an.
Die Ergebnisse der vorgenannten Arbeit können nur indirekt mit dem Resultat unserer Untersuchungen zur Absorptionskinetik freier Insulinmischungen verglichen werden:
Bisher wurden fast ausnahmslos Patienten mit juvenilem Typ Diabetes zur Untersuchung herangezogen, die stationär aufgenommen waren und regelmäßig zu bestimmten Zeiten ihre Mahlzeiten bekamen, während der Verlauf des Blutzuckers über einen Zeitraum von 24 Stunden bestimmt wurde.
Die bislang verfügbaren Untersuchungen zur Insulin-

Pharmakokinetik stützten sich im wesentlichen auf die indirekte Meßmethodik, die 1969 von BINDER im Zusammenhang dargestellt wurde.
Dabei gilt die radioaktive Abklingquote oberhalb der Injektionsstelle als Maß für die Absorption von intaktem Insulin von der Injektionsstelle in die Blutbahn. Bei diesem Vorgehen wurden Absorptionsraten von Alt-Insulin-Präparaten mit einem linearen Verlauf bis zu 5 bis 6 Stunden und mit einer Halbwertzeit von ca. 170 Minuten erarbeitet (MOORE, 1959; BINDER, 1969; KOIVISTO und FELIG (1978).
Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den ermittelten Werten einer direkten Meßmethodik im Tierversuch für subkutan injiziertes Alt-Insulin. Hier ergab sich eine Halbwertzeit - Degradation plus Absorption - von 35 Minuten (BERGER, 1979).
Diese Unterschiede beruhen auf der Unhaltbarkeit einer Reihe von Prämissen, die von BINDER (1969) als Grundlage dieser indirekten Meßmethodik angegeben wurden.
So muß es nach BINDER Voraussetzung sein, daß das Insulinmolekül im subkutanen Fettgewebe völlig unversehrt ist.
Dies ist nach BERGER (1979) aber nicht der Fall: ein signifikanter Anteil des subkutan injizierten Insulins wird an der Injektionsstelle degradiert, d. h. man muß davon ausgehen, daß ein erheblicher Anteil des subkutan injizierten Insulins in loco abgebaut und inaktiviert wird. Diese Befunde machen die indirekte Methode nach BINDER für eine detaillierte Untersuchung der Insulinabsorption ungenau.
Wir aber haben, da man mittlerweile in der Lage ist, auch Serum-Insulin-Konzentrationen messen zu können,

als Probanden Normalpersonen ausgewählt, die nach 8 - 10stündigem Fasten zu den Untersuchungen erschienen. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich nur über 150 Minuten nach erfolgter Injektion, um mögliche Hypoglykämien zu vermeiden.

Unsere Untersuchungen zur Absorptionskinetik freier Insulinmischungen zeigen nur dann eine verlangsamte Absorption für Alt-Insulin in der Kombination Actrapid^{R}/Monotard^{R}, wenn die Injektion mit einer Verzögerung von nur 5 Minuten nach der Mischung erfolgte (Programm d).

Hier muß angenommen werden, daß in der Spritze ein Teil der Alt-Insulin-Komponente durch überschüssige Zinkionen des Monotard^{R}-Insulins gebunden wird und als amorphes Insulin mit intermediärer Wirkung ausfällt.

Im Gewebe findet dagegen eine Umwandlung des Alt-Insulins in die amorphe Form der Insulin-Zink-Suspension offenbar wegen der anatomisch-physiologischen Verhältnisse am Injektionsort nicht statt.

Mögliche Ursache hierfür könnte die nach der Injektion auftretende Änderung der osmotischen Verhältnisse, der pH-Wert in der Umgebung am Applikationsort, die unterschiedliche Löslichkeit der beiden Insuline, ihre unterschiedliche Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung sowie die verwendeten Vehikel- und Konservierungssubstanzen sein.

Es ist also nicht zulässig, daß von einer Helferin montags sämtliche Actrapid^{R}/Monotard^{R}-Mischungen für die laufende Woche vorbereitet und im Kühlschrank aufbewahrt werden, bis diese Mischungen dann im Laufe der Woche den Patienten injiziert werden.

Eine Mischung von Actrapid ^{R}/Monotard ^{R}-Insulin ist unbedingt unmittelbar nach dem Mischen zu injizieren, um eine Verminderung des Initialeffekts sowie die Gefahr eines verlängerten Hypoglykämie-Risikos während der Nachtstunden zu vermeiden.

Klinische Studien über die Mischung von NPH- mit Alt-Insulin zeigten, daß anscheinend ein echter additiver Effekt im Sinne eines Kombinationsinsulins zustande kommt.

So fand KØLENDORF et al., 1978, in seinen Untersuchungen heraus, daß durch das Mischen von Leo-Alt-Insulin^{R} mit Leo-NPH retard^{R} der Initialeffekt nicht verlorengeht. Er untersuchte 10 Diabetiker, die bis dato noch nicht mit Insulin behandelt worden waren. Im ersten Versuch wurde diesen Patienten - morgens, nüchtern - 14 E Leo-NPH retard^{R} sowie 6 Leo-Alt^{R} getrennt injiziert.

In einem zweiten Versuch wurde diesen Patienten dann - wieder morgens, nüchtern - Leo Mixtard^{R}, 20 E, injiziert. Leo Mixtard^{R} ist eine vorgefertigte Mischung aus 70 % Leo-NPH retard^{R} und 30 % Leo-Alt^{R}.

Die gemessenen Blutzuckerwerte wiesen beim Vergleich der beiden Versuche keine nennenswerten Unterschiede auf, weder im Bereich von ca. 2 Stunden nach der Injektion (Initialeffekt) noch während der Nachtstunden (Gefahr des verlängerten Hypoglykämie-Risikos).

Unsere Untersuchungen in der Kombination Leo-Alt^{R} und Leo-NPH retard^{R} zeigen ebenfalls, daß Mischungen von Leo-Alt^{R} und Leo-NPH retard^{R} ohne Änderungen der Alt-Insulin-Wirkung möglich sind, wenn 10 E Leo-Alt^{R} und 16 E Leo-NPH retard^{R} 5 Minuten nach dem Mischen s. c. injiziert werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Anhand der vorstehenden Abbildungen, insbesondere der Abbildungen 5 und 9, wurden die Effekte von freien Insulinmischungen auf die Absorption des kurzwirkenden Insulins gezeigt. Demnach sind freie Kombinationen der gewählten Insulin-Präparate mit einer Ausnahme möglich: Wird Actrapid® und Monotard® gemischt und erst 5 Minuten später subkutan injiziert, so ist der Anstieg der Serum-Insulin-Kurve flacher, die Unterschiede sind gegenüber einer sofortigen Injektion von Actrapid® und Monotard® unmittelbar nach dem Mischen signifikant. Auch die Berechnung von IRI-$T_{max.}$ ist verlängert, während die Bestimmung von IRI-$Conc._{max.}$ keine signifikanten Unterschiede in der gewählten Kombination ergab. Die Berechnung der prozentualen Bioverfügbarkeit von Insulin innerhalb der ersten 90 Minuten zeigt eine Reduktion der biologisch verfügbaren Insulinmenge um ca. 20 %, wenn die Injektion des Insulingemisches erst 5 Minuten nach der Vermischung der Präparate erfolgt.

Freie Kombinationen in dem von uns gewählten Verhältnis von Leo-Alt® zu Leo-NPH retard® sind ohne Änderung der Alt-Insulin-Wirkung möglich.

Bei den metabolischen Parametern Glukose, freie Fettsäuren, Laktat, Pyruvat und Ketonkörper waren trotz unterschiedlicher Injektionen von Actrapid®/Monotard® bzw. Leo-Alt®/Leo-NPH retard® in den 4 Versuchsprogrammen keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

6. ANHANG

6.1 Literaturverzeichnis

ANONYMUS:
Subcutaneous injections and absorption of insulin (Lancet-Editorial). Lancet, I: 1005 - 1006 (1980)

ASHER, J.:
Ein Beitrag zur Resorption durch die Blutgefäße. Z. f. Biologie 29: 247 - 255 (1892)

BANGHAM,D.R./MUSSET,M.V.:
The fourth international standard for insulin. Bull. Wld. Hlth. Org. 20: 1209 (1959)

BANTING,F.G./BEST,C.H.:
Pancreatic extracts in the treatment of diabetic. Canad. med. Ass. J. 12. 141 (1922)

BANTING,F.G./CAMPBELL,W.R./FLETCHER,A.A.:
Further clinical experience with insulin (pancreatic extracts), in the treatment of diabetic mellitus. Brit. med. J. 8 - 12 (1923)

BERGER,M./HALBAN,P.A./MÜLLER,W.A./OFFORD,R.E./RENOLD,A.E./VRANIC,M.:
Mobilization of subcutaneously injected tritiated insulin in rats: effects of muscular exercise. Diabetologia 15: 133 - 140 (1978)

BERGER,M./BERCHTOLD,P./GRIES,F.A./ZIMMERMANN,H.:
Die Bedeutung von Muskelarbeit und Training für die Behandlung des Diabetes mellitus. Dtsch. Med. Wschr. 103, 439 - 443 (1978)

BERGER,M./HALBAN,P.A./MÜLLER.W.A./OFFORD,R.E./
VRANIC,M./RENOLD,A.E.:
Pharmacokinetics of subcutaneously injected tritiated insulin: effect of exercise. Diabetes 28 (Suppl. 1) 53 - 57 (1979)

BERGER,M./HALBAN,P.A./GIRARDIER,L./SEYDOUX,J./
OFFORD.R.E./RENOLD,A.E.:
Absorption kinetics of subcutaneously injected insulin. Evidence for degradation at the injected site. Diabetologia 7: 97 - 99 (1979)

BERGER,M./CÜPPERS,H.-J./HALBAN,P.A./OFFORD,R.E.:
The effect of aprotinin on the absorption of subcutaneously injected regular insulin in normal subjects. Diabetes 29: 81 - 83 (1980)

BERGER,M./BERCHTOLD,P./KEMMER,F.W.:
Metabolic and hormonal effects of exercise in diabetics. In: Handbook of Diabetes mellitus, M. Brownlee (Hrsg.), Garland Press, New York, Band 3, pp. 273 - 296, (1980)

BINDER,C.:
Absorption of injected insulin.
Acta Pharmacol. Toxicol. (suppl. 2) 27: 1 - 87 (1969)

BROWNLEE,M/CAHILL,G.F.:
Diabetic control and vascular complications. Atherosclerosis Reviews 4: 29 - 70 (1979)

BÜCHER,T./CZOK,R./LAMPRECHT,N./LATZKO,E.:
Pyruvat. In: H.U.Bergmeyer (Ed.): Methods of enzymatic analysis, 253 - 259, New York, London; Academic Press 1963

BUDDECKE,E.:
Grundriss der Biochemie, Walter deGruyter Verlag, Berlin-New York (1977)

CAMPBELL,W.R.:
Some difficulties in the use of the insulins in diabetic practice. Bull. New York Acad. Med. 15: 579 - 596 (1939)

CLARKE,B.F./DUNCAN,L.J.P.:
The Practitioner, 207, 498 (1971)

COLWELL,A.R./IZZO,J.L./STRYKER,W.A.:
Intermediate action of mixtures of soluble insulin and protamine zinc insulin, arch. of int. medicine, vol. 69, pp. 931 - 951 (1942)

DANDONA,P./HOOKE,D./BELL,J.:
Exercise and insulin absorption from subcutaneous tissue. Br. Med. J. 1: 479 - 480 (1978)

DÖRZBACH,E./MÜLLER,R.:
Die Insulintherapie: Die Insulinpräparate In: Handbuch des Diabetes mellitus, Band II; 1087 -1111, J.F.Lehmanns Verlag, München (1971)

DUNCAN,L.J.P./CLARKE,B.F.:
The Practitioner, 196, 161 (1966)

FRIEDMAN,G.J.:
Available insulins and insulinhypoglycemia. N. Y. J. Med. 62, 527 (1962)

GRADY,H.J./LAMAR,M.Y.:
Glucose determination by automated chemical analysis; Clin. Chem. 5; 542 - 550 (1959)

HALBAN,P.A./OFFORD,R.E.:
The preparation of a semisynthetic tritiated insulin with a specific radioactivity of up to 20 Curies per millimole. Biochem. J. 151: 219 - 225 (1975)

HALBAN,P.A./BERGER,M./OFFORD,R.E.:
Distribution and metabolism of intravenously injected tritiated insulin in rats. Metab. 28: 1097 - 1104 (1979)

HALLAS-MØLLER,K./PETERSEN,K./SCHLICHTKRULL,J.:
Crystalline and amorphous insulin-zinc compounds with prolonged action. Ugeskr. Laeg. 113: 1761 (1951)

HARROWER,A.D.B./DUNCAN,L.J.P./CLARKE,B.F.:
Comparison of injection techniques for soluble and protamine zinc insulins in diabetes mellitus. The Practitioner 214: 228 - 231 (1975)

HOHORST,H.J.:
L-Lactate. Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD. In: H.U.Bergmeyer (Ed.): Methoden der Enzymatischen Analyse, 1425 - 1429, Weinheim, W.-Germany, Verlag Chemie 1970

JOINER,C.L.:
Rate of clearance of insulin labelled with J^{131} from the subcutaneous tissues. Lancet I: 964 - 967 (1959)

JOSLIN,E.P.:
The treatment of Diabetes mellitus. In: Treatment of Diabetes mellitus, 10. Auflage, Hrsg.: Lea und Febinger, Philadelphia, 243 - 300 (1939)

JOVANOVIC,L./PETERSEN,C.M./SAXENA,B.B./DAWOOD,Y./DAUDEK,C.D.:
Feasibility of maintaining normal glucose profiles in insulin-dependent pregnant diabetic woman. Am. J. Medicine 68: 105 - 112 (1980)

JÖRGENS,V./BERCHTOLD, P./BERGER,M.:
Therapie des insulinbedürftigen Diabetes mellitus: regelmäßige Stoffwechselselbstkontrolle und Insulindosisadaption durch den Patienten. Dtsch. Med. Wschr. 104: 1796 - 1798 (1979)

JÖRGENS,V./BERCHTOLD,P./EICKENBUSCH,W./SCHOLZ-THIELEN,E.:

Beneficial effects of diabetes teaching: importance of self-management by the patients. Diabetes 29, suppl. 2, 27 A (1980)

KANEKO,T./ODA,H./MUNEMURA,M./YANASHITA,S./SUZUK,M./YANAIHARA,N./HASHIMOTO,T./YANAIHARA,C./ODA,K.:

Radioimmunoassay of human proinsulin c-peptide using synthetic human connecting peptide. Endocrinol. Jpn. 21: 141 - 145 (1974)

KEMMER,F.W./BERCHTOLD,P./BERGER,M./ CÜPPERS,H.J./STARKE,A./GRIES,F.A./ZIMMERMANN,H.:

Exercise-induced fall of blood glucose unrelated to alteration of insulin mobilization. Diabetes 28: 1131 - 1137 (1980)

KLEY,H.K./BARTMANN,E./KRÜSKEMPER,H.L.:

A simple and rapid method to measure non-protein-bound fractions of cortisol, testosterone and oestradiol by equilibrium dialysis: comparison with centrifugal filtration. Acta Endocr. 85: 209 - 219 (1977)

KLOTZ, U.:

Klinische Pharmakokinetik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York (1979)

KOIVISTO,V.A./FELIG,P.:

Effects of leg exercise of insulin-absorption in diabetic patients. New Engl.J.Med. 298: 77 - 83 (1978)

KØLENDORF,K./BOJSEN,J./NIELSEN,S.L.:
Adipose tissue blood flow and insulin disappearance from subcutaneous tissue. Clin. Pharmacol. Ther. 25: 598 - 604 (1979)

KØLENDORF,K./AABY,P./WESTERGAARD,S./DECKERT,T.:
Absorption, Effectiveness and Side Effects of Highly Purified Porcine NPH-Insuline Preparations (Leo ^{R}) Europ.J.clin.Pharmacol. 14, 117 - 124 (1978)

LEIDINGER,F.:
Zur Bedeutung verschiedener Methoden zur Blutzucker - Selbstkontrolle in der Behandlung des Diabetes mellitus. Dissertation, Med. Fak. der Universität Düsseldorf (1980)

LOCHNER,W./NASSEN,M.:
Untersuchungen über den Herzstoffwechsel und die Coronardurchblutung, insbesondere bei Dinitrophenolvergiftung; Pfluegers Arch. 271, 405 - 419 (1960)

LUFT,R.:
Insulin: Islet pathology-islet function-insulin treatment. Ed. R. Luft, Verl.: Lindgren und Söner AB, Mölndal, Schweden (1976)

MEHNERT,H./SCHÖFFLING,K.:
Diabetologie in Klinik und Praxis. Ed.: Mehnert-Schöffling, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1974)

MELLANBY,J./WILLIAMSON,D.H.:
Acetoacetat. In: H.U. Bergmeyer (Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. 1776 - 1779, Weinheim, W.-Germany, Verlag Chemie (1970)

MITTENZWEI, H.:
Protamin-Zink-Insulin. In: Stich, W. und H. Maske (Hrsg.): Insulin und Insulintherapie S. 75, Verlag Urban & Schwarzenberg, München-Berlin (1956)

MOORE,E.W./MITCHEL,M.L./CHALMERS, T.C.:
Variability in absorption of insulin-^{131} I in normal and diabetic subjects after subcutaneous and intramuscular injection.
J. Clin. Invest. 38, 1222-1227 (1959)

MÜLLER,W.A./TAILLENS,C./LERERET,S./BERGER,M., PHILIPPE,J./HALBAN,P.A./OFFORD,R.E.:
Resistance against subcutaneous insulin successfully managed with aprotinin. Lancet I, 1245-1246 (1980)

OFFORD,R.E./PHILIPPE,J./DAVIES,J.G./HALBAN,P.A./ BERGER,M.:
Inhibition of degradation of insulin by ophthalmic acid and by abovine pancreatic proteinase inhibitor.
Biochem.J. 182: 249-251 (1979)

POULSEN,J.E./DECKERT,T.:

Insulin: Islet pathology, islet function, insulin treatment.
Insulin preparations and the clinical use of insulin. Ed.: R. Luft 199-212 (1976)

RITSCHEL,W.A.:

Angewandte Biopharmazie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart (1973)

SAUER,H.:

Heutige Möglichkeiten der Insulintherapie. Internist 5, 135 (1964)

SCHOU,J.:

Absorption of drugs from subcutaneous connective tissue. Pharmacol. Rev. 13: 441-464 (1961)

SCHÖFFLING,K./MÜLLER,R.:

Die klinische Wirkung der Insulin-Zubereitungen. In: Insulin, Part 1, Handbook of experimental pharmacology. Dörzbach, E. (Ed.) 321-338, Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1971)

SCHLICHTKRULL,J./PINGEL,M./HEDING,L.G./BRANGE,J.
JORGENSEN,K.H.:

Insulin preparations with prolonged effect. In: Insulin, Part 2, Handbook of experimental pharmacology, Hasselblatt, A.,Bruchhausen,F. von (Eds) 729-777, Berlin, Heidelberg,New York: Springer (1975)

STEVENSON,R.W./TSOKAK,T.J./PARSONS,J.A.:
Matched glucose responses to insulin administered subcutaneously and intravenously. Evidence for subcutaneous inactivation.
Diabetologia, 18: 423-426 (1980)

STÖTTER,G.:
Diabetes mellitus. Neuere Gesichtspunkte und moderne Therapie. Münch. med. Wschr. 103, 755, 816 u. 848 (1961)

TSCHOBROUTSKY,G./CHARITANSKI,D./BLOUQUIT,Y./PAPOZ,L./SORIA,J./ROSA,J.
Diabetic control in 102 insulin-treated outpatients. Diabetologia 18: 447-452 (1980)

VRANIC,M./BERGER,M.:
Diabetes and exercise. Diabetes 28: 147-167 (1979)

WILLIAMSON,D.H./MELLANBY,J.:
D-3-Hydroxybutyrate. In: H.U. Bergmeyer (Ed.) Methoden der Enzymatischen Analyse, 1772-1775, Weinheim, W-Germany, Verlag Chemie 1970

ZINMAN,B./MURRAY,F.T./VRANIC,M./ALBISSER,A.M./LEIBEL,B.S./McLEAN,P.A./MARLISS,E.B.:
Glucoregulation during moderate exercise in insulin treated diabetics.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 641-652 (1977)

6.2 Danksagungen

Unser Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. M. Berger für die Überlassung des Themas und die wertvollen Hinweise bei der Durchführung der Arbeit.

Weiterhin möchten wir Herrn Dr. H. J. Cüppers für seine Betreuung und seine Anregungen danken.

6.3 Lebensläufe

Heinz Spitza

Personalien: Geboren am 20. Juni 1951 in Salzgitter-Lebenstedt als Sohn der Eheleute Heinz Karl Spitza und Hildegard Spitza, geb. am Ende.
Verheiratet seit dem 30.5.1975 mit Gabriele Spitza, geb. Ditz.

Ausbildung: Vom 1.4.1958 bis 31.3.1962 Grundschule, anschließend Besuch des Städt. Gymnasiums in Mülheim a. d. Ruhr, Abitur am 25.6.1970.
Ab 1.10.1970 bis 30.9.1972 Dienst bei der Bundeswehr.
Im Wintersemester 1972/73 Erstimmatrikulation an der Universität Bochum im Fach Wirtschaftswissenschaften. Im Wintersemester 1976/77 Wechsel zum Fach Zahnmedizin an der Universität Düsseldorf. Im Sommer 1977 naturwissenschaftliche Vorprüfung der Zahnheilkunde und im Frühjahr 1979 zahnärztliche Vorprüfung. Seitdem klinisches Studium mit voraussichtlichem Abschluß im Herbst 1981.

Guido Vogel

Personalien: Geboren am 5.11.1951 in Mülheim a. d. Ruhr als Sohn des Bauingenieurs Wilhelm Vogel und seiner Ehefrau Maria, geb. Buse.
Verheiratet, 1 Kind.

Ausbildung : Von 1958 bis 1962 Grundschule, von 1962 bis 1970 Gymnasium. Abitur im Sommer 1970. Vom Sommer 1970 bis März 1973 Ausbildung zum Versicherungsmathematiker bei der Firma Herbert E. G. Höfer in Mülheim a. d. Ruhr, danach Tätigkeit als Versicherungsmathematiker bei der Firma H. E. G. Höfer bis Herbst 1975. Im Wintersemester 1975/76 Erstimmatrikulation an der Universität Düsseldorf im Fach Chemie. Im Wintersemester 1976/77 Wechsel zum Studienfach Zahnmedizin. Im Sommer 1977 naturwissenschaftliche Vorprüfung der Zahnheilkunde und im Frühjahr 1979 zahnärztliche Vorprüfung. Seitdem klinisches Studium mit voraussichtlichem Abschluß im Herbst 1981.